

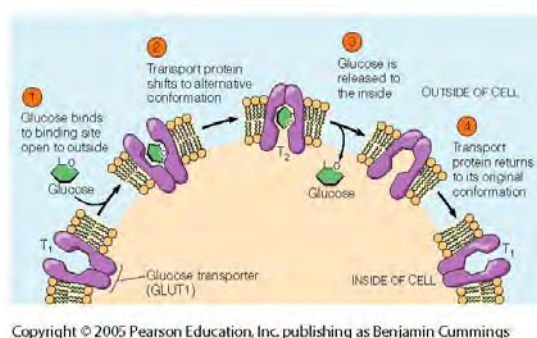
Løsningsforslag TFY 4260 Cellebiologi og cellulær biofysikk

18 mai 2013

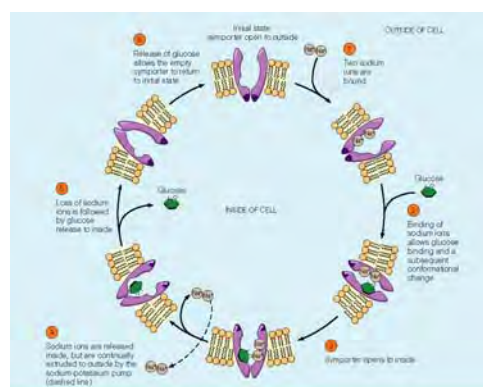
Oppgave 1: Transport over epitelcellelag

Fra tarm inn i epitelcellen med fasilitert diffusjon

- Fasilitert diffusjon benytter bærerprotein for å transportere molekylet over membranen.
- Molekylet går med sin konsentrasjonsgradient fra område med høy konsentrasjon til lav konsentrasjon. Glukose går fra området med høy til område med lav konsentrasjon fordi flest glukosemolekyler vil binde seg på den siden konsentrasjonen er størst.
- Molekylet som skal transporteres binder seg til et spesifikt bindingssted på bærerproteinet. Bærerproteinet gjennomgår en konformasjonsendring som gjør at bindingsstedet med molekylet som skal transporteres kommer til den andre siden av plasmamembranen. Molekylet løsner så fra bærerproteinet. Årsaken til konformasjonsendringen er ikke kjent, antar at bindingen av glukose til bærerproteinet medfører konformasjonsendring eller at bærerproteinet oscillerer kontinuerlig mellom de to konformasjonsformene.
- Fluxen avhenger av antall bærerprotein og metningsgrad. Gjelder også sekundær aktiv transport.



Fasilitert diffusjon



Sekundær aktiv transport

Fra epitelcellen ut i blodet med sekundær aktiv transport

Glukose går ut av epitelcellen mot sin konsentrasjonsgradient med sekundær aktiv transport. Denne transportmekanismen er avhengig av en ionegradient over membranen, som regel Na^+ som oppstår pga Na^+/K^+ -ATPase pumpen. Glukose transporteres mot sin konsentrasjonsgradient, Na^+ med sin konsentrasjonsgradient.

En kjenner ikke til mekanismen for bærerproteinet i detalj. En modell er at bærerproteinet oscillerer kontinuerlig mellom to tilstander. En annen modell er at bærerproteinet endrer konformasjon når både Na^+ og molekylet som skal transporteres (glukose) bindes. I begge tilfeller gjelder følgende:

- Et bæremolekyl spesifikt for glukose har forskjellig affinitet for glukose på de to sidene av plasmamembranen. Dette oppnås ved:

1. Na^+ bindes til bærerprotein

⇒ allosterisk endring av bærerprotein og affiniteten for glukose endres

⇒ glukose bindes

2. Bærerprotein endrer konformasjon. Spontan eller pga bindingen.

⇒ glukose og Na^+ transporteres over membranen.

3. Den nye konformasjonsendringen tilsvarer lav-affinitetstilstand og glukose og Na^+ faller av bærerprotein.

⇒ opprinnelig konformasjon gjenopprettes

Det hele gjentas.

Her vil glukose gå ut av cellen og Na^+ inn i cellen med sin konsentrasjonsgradient.

Oppgave 2 Ionekanaler

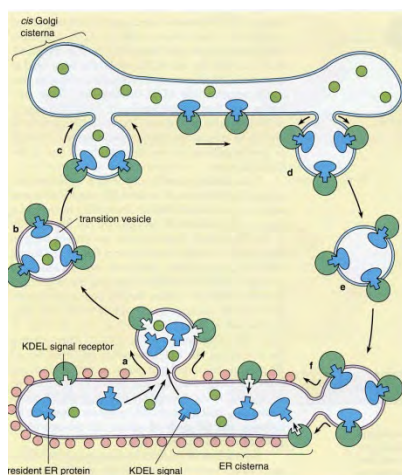
Ioner drives gjennom ione kanaler ved sin elektrokjemiske gradient, dvs at både den kjemiske konsentrasjonsgradienten og det elektriske spenningspotensialet driver ioner over plasmamembraner. Konsentrasjonen av K^+ ioner er større intracellulært enn ekstracellulært og K^+ ioner vil strømme ut av cellen med sin konsentrasjonsgradient. Det elektriske potensialet over membranen vil tiltrekke seg de positive K^+ ionene slik at K^+ ioner går inn i cellen. Dersom ionestømmen inn i cellen pga det elektriske potensialet er større enn ionestrømmen ut av cellen pga konsentrasjonsgradienten, vil K^+ ioner kunne gå mot sin konsentrasjonsgradient.

Oppgave 3: Protein forblir i ER

Den vanligste teorien er at proteiner som skal forbli i ER har en signalsekvens som angir dette (KDEL sekvens). Disse løselige proteinene transporteres i vesikler til cis-Golgi nettverk. KDEL-sekvensen bindes til reseptorer i cis-Golginettverk og reseptor-protein komplekset pakkes i vesikler som går tilbake til ER.

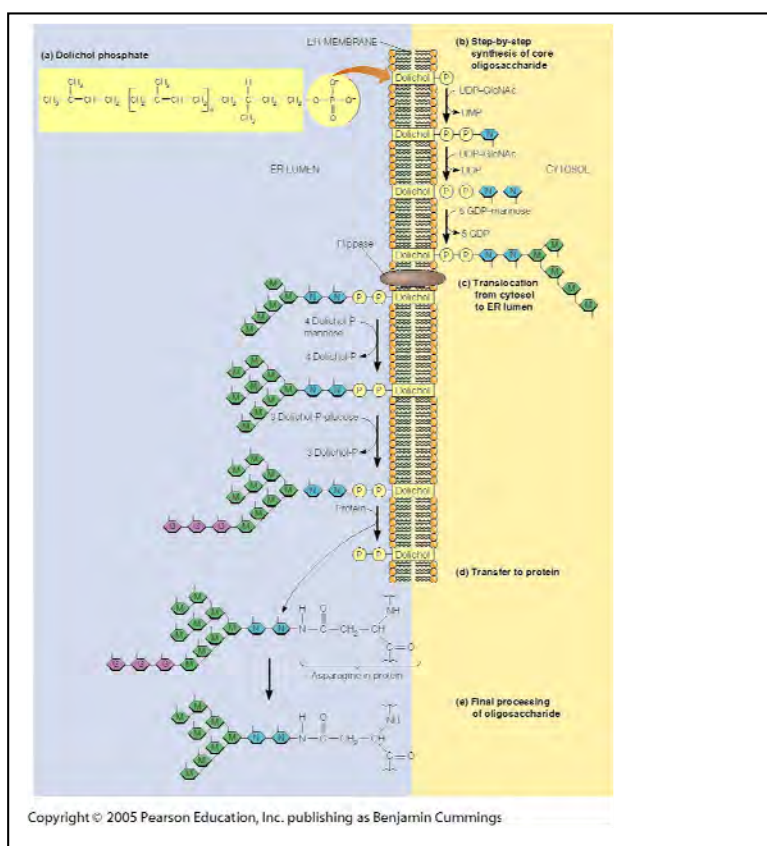
Høy affinitet for KDEL-reseptor ved sur pH som i Golgi. Lav affinitet, frigjøres fra reseptor ved nøytral pH i ER. Se figur

En annen mulig mekanisme er at proteinene danner så store komplekser at de fysisk er ekskludert fra og transporteres i vesikler til cis-Golgi nettverk.



Oppgave 4: Glykosylering av proteiner

- Glykosyleringen starter på lipidet dolichol som sitter i membranen på ER
- Karbohydrater adderes ett og ett til dolichol.
- Først legges suktermolekylene til på cytosol side, så skjer en translokasjon av sukker-molekylet til luminal side der syntesen fullføres. En flippase er ansvarlig for dette.
- Oligosakkaridet består av N-acetylglucosamin, mannose, glukose, til sammen 14 sukker.
- Dette oligosakkaridet overføres ved en transferase i ett trinn samlet til NH_2 gruppen på asparagin-molekyl i proteinet.
- Dette skjer under proteinsyntesen idet asparagin-molekylet i sekvensen Asn-X-Ser/Thr, kommer inn i lumen av ER (gjennom kanalen i ER membranen), dvs før protein syntesen er avsluttet og proteinet foldet.



Oppgave 5: Muskelkontraksjon

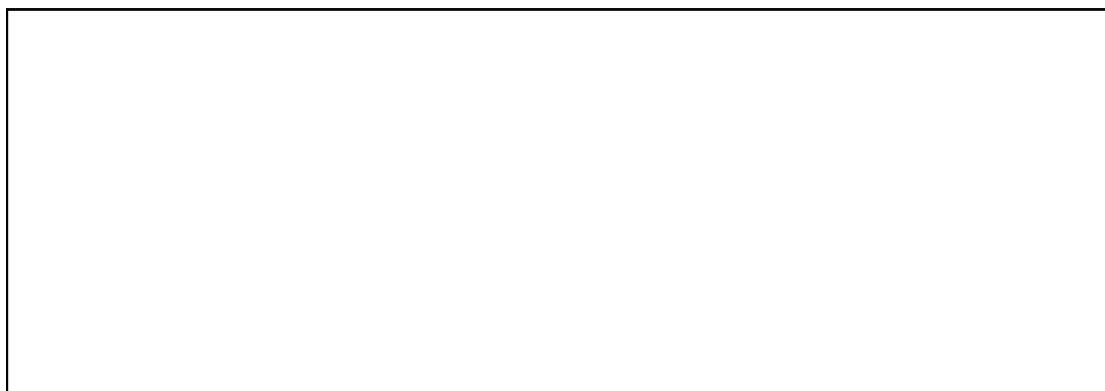
Organisering sarcomer: Myofibriller består av repeterende sarcomerer bestående av tynn og tykk filament organisert som figur viser. Tynn filament består av aktinfilament (to identiske kjeder bestående av det globulære proteinet aktin tvunnet sammen i en dobbelt helix) og proteinene tropomyosin og troponin.

Tropomyosin (aktin-bindende) ligger langs aktinfilament. Troponin er et proteinkompleks med bindingssted for tropomyosin og Ca^{2+} .

Aktinfilamentene danner parallelle bunter adskilt med proteinet aktinin.

Tynn filamentene er forankret i proteiner som danner z-linjen og tykk filamentet er forankret til z-linjen via proteinet titin,

Tykk filament består av proteinet myosin (en dobbel helix med to globulære hoder). Myosinhodet har bindingssteder for aktin og ATPase aktivitet. Myosinhodet danner kryssbruene mellom tynn- og tykk filament.



Kryssbrusyklus: Myosin vandrer langs aktinfilamentet slik at sarcomerer kan kontraheres ved såkalt syklisk kryssbru som vist på figur.



Ca^{2+} igangsetter kryssbrusyklusen: Ca^{2+} øker i cytoplasma og binder seg til proteinet troponin på tynnfilamentet.

- I en muskel som slapper av vil proteinet tropomyosin på tynn filamentet blokkere bindingsstedet for myosin på aktin. Tropomyosin holdes i denne posisjonen av troponin.
- Når Ca^{2+} binder seg til troponin, endrer troponin sin konformasjon slik at det drar tropomyosin vekk fra bindingsstedet for myosin på aktin. Dermed kan myosinhodet binde seg til aktin og den såkalte "kryss-bru" syklusen igangsettes og muskelen kontraheres.

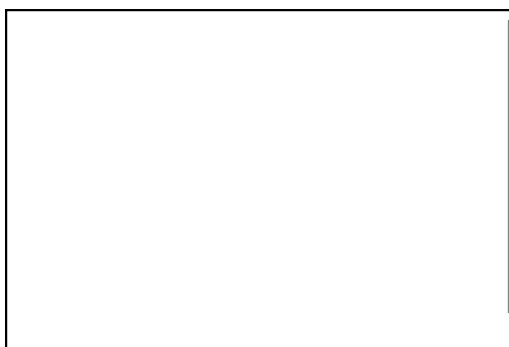


Oppgave 6: Pakking av DNA

- Proteinene histoner binder seg til DNA (positiv ladning på histoner til negativt ladet DNA)
- DNA tvinnes seg rundt en kjerne på 8 histoner og danner nucleosomer.

Kan observeres i elektron mikroskop som "perler på en snor". DNA er tvunnet 1.7 ganger rundt histon-oktameren som består av 2 kopier av H2A, H2B, H3 og H4.

Mellom nucleosomene finner en såkalt linker-DNA.



- Nucleosomer pakkes videre oppå hverandre i kromatin-fibre med diameter ca 30 nm.

Histon H1 er antatt å være ansvarlig for denne pakkingen. Det globulære hodet på H1 binder seg til et nucleosom og armene på histonet er i kontakt med histon-kjernen på nærliggende nucleosomer. Ikke klart hvordan DNA pakkes i kromatin-fiberen. En modell er såkalt zig-zag struktur der kromatin-fiberen danner en 3-dim zig-zag struktur som kan vekselvirke med nabo kromatin-fibre.

foldet i
sentral
riks.

natinet
op den
sen. En
i denne

Oppgave 7: Cellesyklusarrest

For å unngå at skadet DNA replikeres sjekkes DNA for eventuell skade før inngangen i S-fase (restriksjonspunktet), i G2 fase og i mitose.

DNA skade aktiverer en kinase kalt ATM kinase

⇒ Denne kinasen fosforylerer tumor-supressor-proteinet p53. Dette stabiliserer p53 som ellers ville bli merket for degradering via ubiquitin-proteasomet.

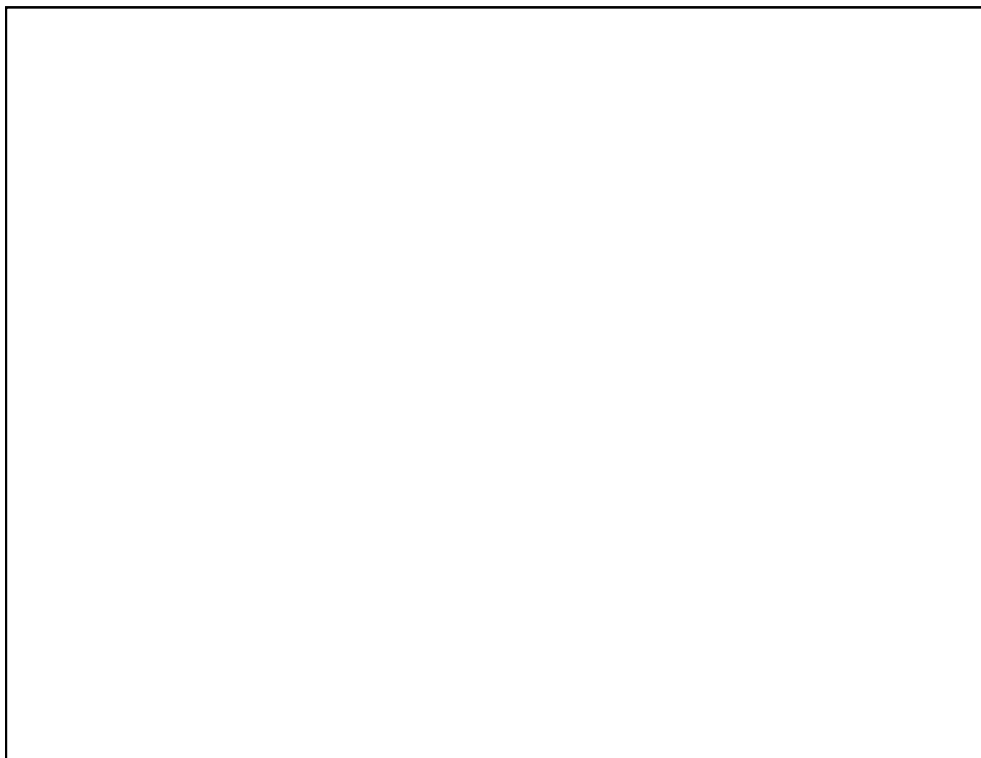
⇒ p53-fosforylert fungerer som en transkripsjonsfaktor og binder seg til DNA der den regulerer transkripsjonen av genet som koder for proteinet p21. p21 er en hemmer av cyclin-avhengig kinase (cdk)

⇒ dannelsen av komplekset cyclin-Cdk hemmes. Slike kompleks er ansvarlige for at cellen kan passerer sjekkpunktene gjennom cellesyklus ved at

Cyclin-CdK fosforylerer Rb proteinet. Dette kan nå cyclin-CdK ikke gjøre. Rb stanser dermed cellen i restriksjonspunktet ved at den forhindrer transkripsjon av enzymer og proteiner som er nødvendige for å gjennomføre S-fase. Transkripsjonen forhindres ved at Rb binder transkripsjonsfaktorer.



Angiogenese igangsettes ved at tumorceller skiller ut faktorer som stimulere dannelsen av nye blodårer såkalt angiogene faktorer som VEGF. Slike faktorer bindes til reseptorer på endotelcellene som danner blodåreveggen. Tumorcellene skiller også ut faktorer som hemmer angiogenese. Normalt er det en balanse mellom stimulerende og hemmende angiogene faktorer. Når de stimulerende faktorene dominerer igangsettes angiogenese



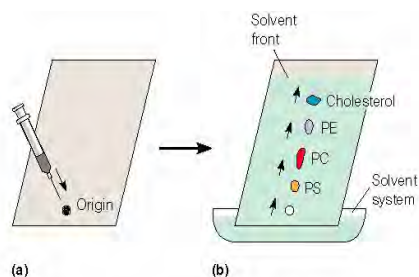
Hovedtrinnene i angiogenesen:

- Angiogene faktorer bindes til reseptorer på plasmamembranen av endotelceller.
- Endotelcellene aktiveres og begynner å dele seg.
- Endotelcellene skiller ut enzymer (matrix metalloproteinaser) som bryter ned basalmembranen som omgir blodårene og bryter ned ekstracellulær matrix.
- Endotelcellene kan dermed bevege seg mot tumorcellene som skiller ut de angiogene faktorene.
- Endotelcellene deler seg og danner hule rør som former de nye blodårene. Blodårene dannes ved at rørene danner løkker ut fra eksisterende blodårer og blod begynner å flyte gjennom dem.
- Endotelcellene stabiliseres ved at det dannes basal lamina rundt dem og pericyter legger seg ved basalmembranen

Oppgave 9. Eksperimentelle teknikker

Lipider i membraner kan separeres ved tynnlagskromatografi. Lipidene separeres basert på deres polaritet. En løsning av lipider fra membraner lages ved hjelp av organiske løsningsmiddel. Tynnlagskromatografi består av en glassplate dekket med en tynn film av en

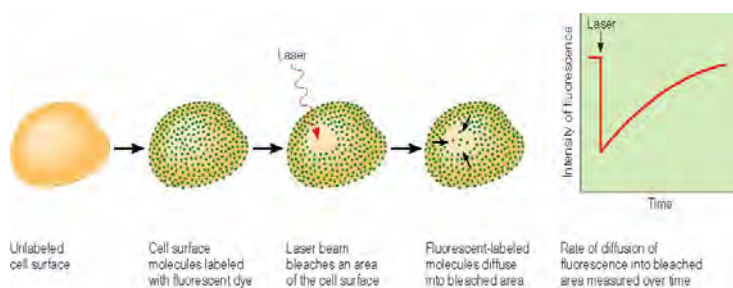
polar forbindelse som sialic syre. Lipidløsningen plasseres i nedre hjørne på denne platen. Glassplaten plasseres i en løsning bestående av kloroform, metanol og vann. Løsningen vandrer oppover platen og lipidene vil da også vandre oppover. Hvor langt de går avhenger av affiniteten mellom lipidet og sialic syre filmen på platen. Ikke polare molekyler som kolesterol har lav affinitet og går langt. Mer polare lipider vandrer kortere.



Copyright © 2005 Pearson Education, Inc. publishing as Benjamin Cummings

Diffusjon av proteiner i plasmamembranen kan måles ved en teknikk kalt «fluorescence recovery after photobleaching, FRAP».

Proteinene er merket med et fluorescerende fargestoff. En laser med høy intensitet belyser et lite område på membranen og dette området blekes. Det blekede området avbildes som funksjon av tid og fluorescensintensiteten som gjenopprettes i det blekede området beskriver hvordan omkringliggende fluorescerende molekyl diffunderer inn i det blekede området. Matematiske modeller for diffusjon kan tilpasses den eksperimentelle recovery kurven slik at diffusjonskonstanten kan beregnes.



Copyright © 2005 Pearson Education, Inc. publishing as Benjamin Cummings

Oppgave 10

I denne oppgaven får dere angitt 3 svar, hvorav ett er riktig. Sett kryss ved siden av det riktige svaret.

a) Hvordan endrer transmembranproteiner sin orientering i plasmamembranen:

Ved flipaser

Ved å øke fluiditeten i membranen

Orienteringen kan ikke endres

b) Proteiner som skal inn i mitokondrier:

syntetiseres på ribosomer på overflaten av mitokondriene

syntetiseres på ribosomer i cytosol og har en signalsekvens som gjenkjennes av en signal-gjenkjennende partikkel som frakter det til mitokondrier

syntetiseres på ribosomer i cytosol og har en signalsekvens som bindes til reseptor på overflaten av mitokondrier uten hjelp av signal-gjenkjennende partikkel

c) Transmembranproteiner som er ansvarlige for celle-celle kontakt, kalles:

Cadheriner

Lektiner

Integriner

d) Hvilket protein er ansvarlig for at epitelcellelag tåler strekk:

keratin

collagen

aktin

e) Desmosomer er forankret på cytoplasmatiske side til:

Aktin-filament

Mikrotubulus

Intermediært filament

f) På innsiden av kjernekonvolutten finnes et protein-nettverk som består av:

aktin filament

mikrotubulus

intermediært filament

g) Histoner passerer gjennom kjerneporekomplekset ved:

Passiv diffusjon

Krever ATP

Krever G-bindende protein

h) Organellen som sannsynligvis stammer fra en annen organisme er:

Lysosomer

Golgi apparatet

Mitokondrier

i) Syntese av fosfolipider foregår i:

cytosol

membranen i endoplasmatiske retikulum

Golgi apparatet

j) Endocytotiske vesikler er omsluttet av proteinkappen

COP

Rab

Klatrin

k) Ubiquitin er involvert i:

aktivering av transkripsjon

aktivering av translasjon

nedbryting av proteiner

l) Amplituden av aksjonspotensialet er:

proporsjonal med styrken på stimulus som generer potensialet

uavhengig av styrken på stimulus som generer potensialet

uavhengig av styrken på stimulus som generer potensialet over et bestemt nivå

m) Neurotransmittorer syntetiseres i:

cellekroppen i neuroner

axonterminalen i neuroner

både i cellekroppen og axonterminalen

n) Fosfolipase C aktiverer:

Inositol fosfat

Inositol trifosfat

Fosfatidylinositol-3 kinase

o) Reseptor tyrosine kinase aktiverer ikke:

Inositol fosfat

Inositol trifosfat

Fosfatidylinositol-3 kinase

p) Oncogener har som funksjon:

stimulere cellevekst

reparere DNA skade

hemme cellevekst

q) En forutsetning for at T celler skal gjenkjenne antigener er at MHC proteiner har:

brutt ned antigenet

dannet et kompleks med antigenet

aktivert T cellen

r) Antistoffer angriper bakterier ved:

utskillelse av profyrin

aktiverer komplimentsystemet

aktiverer makrofager

s) I hvilken celletype oppstår klonal seleksjon når den møter riktig antigen?

Nøytrofile celler

Makrofager

B-celler

t) Hvor tidlig etter en infeksjon kan man detektere antistoffer i serum?

5-10 timer

5-7 dager

Aldri, man må infiseres en gang til først

u) Hva er den mest vanlige formen for genregulering i både prokaryote og eukaryote celler?

Translasjons kontroll

Post-translasjonell regulering

Transkripsjonskontroll